

| | |
|-------------|---|
| Title | 心臓外科領域におけるMicrofluorometryの応用 3.心筋エネルギー代謝, 脂質過酸化, コエンザイムQ10からみた心筋保護法(GIK, Cold Blood Cardioplegia)の比較検討 |
| Author(s) | 千葉, 幸夫 |
| Citation | 日本外科宝函 (1982), 51(3): 450-459 |
| Issue Date | 1982-05-01 |
| URL | http://hdl.handle.net/2433/208948 |
| Right | |
| Type | Departmental Bulletin Paper |
| Textversion | publisher |

心臓外科領域における Microfluorometry の応用
3. 心筋エネルギー代謝, 脂質過酸化, コエンザイム Q_{10}
からみた心筋保護法 (GIK, Cold Blood
Cardioplegia) の比較検討

京都大学医学部外科学教室第2講座 (指導: 日笠頼則教授)

千 葉 幸 夫

〔原稿受付: 昭和57年2月3日〕

Application of Microfluorometry to Cardiovascular Surgery
III. Comparison between Cold Blood Cardioplegia and
Crystalloid Cardioplegia by Means of Myocardial Metabolism,
Lipid Peroxydation and Mitochondrial Coenzyme Q_{10}

YUKIO CHIBA

The 2nd Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

In this report intermittent cold blood cardioplegia is compared to crystalloid cardioplegia by means of the NADH fluorescence, myocardial PO_2 , myocardial energy charge, tiobarbiturate reactive substance (TBARS) and coenzyme Q_{10} (CoQ_{10}) in the mitochondria of myocardial cell.

In canine placed on cardiopulmonary bypass, the aorta was clamped and a potassium cardioplegic solution was injected into the aortic root to introduce immediate cardiac arrest. The myocardial temperature was maintained at $15^{\circ}C$ by topical cooling.

I. GIK group: GIK solution (5% glucose 500 ml + K^+ 10 mEq + regular insulin 10 U + meylon 10 ml) was infused into the aortic root (10 ml/Kg) from 100 cm height at 30 minutes intervals.

II. CBC group: cold blood cardioplegia (CBC) (K^+ = 25 mEq/l) was infused into the aortic root (10 ml/Kg) from 100 cm height at 30 minutes intervals.

The NADH fluorescence was monitored from the surface of RV and the myocardial PO_2 was monitored in LV wall by polarographic measurement. At the end of infusion of the cardio-

Key words: Intermittent cold blood cardioplegia, Intermittent crystalloid cardioplegia, Lipid peroxydation. Coenzyme Q_{10} , Free radical

索引語: 間歇的 K^+ 加冷却血液冠灌流法, 間歇的晶質液冠灌流法, 脂質過酸化, コエンザイム Q_{10} , フリーラジカル.
Present address: The 2nd Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan

plegic solutions, transmural biopsies were done and the specimens were used for assay of the high-energy phosphate compounds. Then myocardial mitochondria was separated, and TBARS and CoQ₁₀ were assayed.

As soon as the aorta was clamped, the NADH fluorescence increased and reached a plateau in a few minutes, the myocardial PO₂ decreased and reached a plateau in several minutes conversely. In the GIK group, no change of the fluorescence and the myocardial PO₂ was resulted at anytime of GIK infusion.

In the CBC group, at everytime of CBC infusion the fluorescence decreased promptly to the baseline and the myocardial PO₂ increased. Energy charge was constantly higher in the CBC group than in the GIK group though within a narrow range.

When the ischemic time prolonged, TBARS increased and CoQ₁₀ decreased. There was no difference between the GIK and the CBC group regarding the TBARS and CoQ₁₀ content in mitochondria.

This experimental study proves that the intermittent cold blood cardioplegia has apparently several advantages compared with the intermittent crystalloid cardioplegia. The heart is provided with the intermittent reoxygenation and NADH is oxygenated to NAD instantly. The myocardial ATP is preserved well and CP is replenished adequately. The intermittent cold blood cardioplegia does not seem disadvantageous in lipid peroxidation.

Part 1

心筋保護法は、ほぼ確立した補助手段として、開心術で広く行なわれるようになった。

その結果、複雑心奇型の手術成績も向上し、術後の低心拍出症候群の発生も減少した。心筋保護の目的とするところは、心停止液の注入により、できるだけすみやかに電氣的、機械的心筋の停止を得ること、また低温にして、酸素消費量を下げ、かつ代謝を抑制することである。最近使用されている心筋保護液は、crystalloid cardioplegia 液と cold blood cardioplegia 液に分類される。

本論文では crystalloid cardioplegia 液の1つである Glucose-Insulin-Potassium 液 (GIK 液) と Cold blood cardioplegia 液について microfluorometry によるミトコンドリアの redox state ポーラログラフィによる心筋内酸素濃度、および Energy Charge を測定し、代謝面から比較検討した。

方 法

体重 10~16 kg の雑種成犬 6 頭を、ソムノベンチル 0.4 ml/kg による静脈麻酔下、気管内挿管を行な

い Harvard 型レスピレーターに接続し room air による間歇的陽圧呼吸を行った。第 4 助間で、胸骨横断による両側開胸を行ない、右心房に脱血管を挿入、右総頸動脈に送血管を挿入して体外循環を行なった。充填液は乳酸リンゲル液に、7%重炭酸ソーダ液、カルシウムグリコネート、20%マニトール液を加えたものを使用した。体外循環が安定したところで、上行大動脈を遮断し、大動脈基部に穿刺したテフロン針より、心停止液 (塩化カリウム 5 mEq + 生理食塩水 15 ml) を用手法にて注入し、心停止を行なった。同時に生理食塩水から作成した ice slush を心のう内に加えて局所冷却を行ない心筋温を 15°C 前後に維持した。

GIK 群 GIK は 5%ブドウ糖 500 ml にアスパラ K 10 ml ($K^+ = 20$ mEq/l) レギュラーインシュリン 10 単位、7%重炭酸リダー液 (メイロン) 10 ml を加え、5°C 前後に冷却したものを 30 分毎 10 ml/kg の量を、約 1 m の落差で、大動脈基部に穿刺したテフロン針より、約 2 分間で点滴注入した。

Cold blood cardioplegia 群 (CBC 群) 人工心肺のリザーバーより採取した血液 500 ml にアスパラ K 10 ml の割合で加え、 $K^+ = 25 \sim 30$ mEq/l としたものを 5°C 前後に冷却し、30 分毎、10 ml/kg の量を約 1 m

の落差で、大動脈基部に穿刺したテフロン針より、約2分余りで点滴注入した。

測定は、立石ライフサイエンス研究所製、レドキシメーターのプローブを右室前壁にアロンアルファにて貼付し 3mm 径、70 cm のグラスファイバーで、レドキシメーター本体と接続し、細胞内 redox state を連続的に測定した。また市販のエナメル線を電極として、左室壁に穿刺し、MT 技研製 POG 200 で、ポーログラフィ法により、心筋組織酸素濃度を連続的に測定した。

一方、この測定実験とは別に15頭の犬を使用した同じ実験条件下で、30分～60分毎に、左室心筋を切除し、液体窒素で瞬間凍結した。これを粉碎して、その 1 g に、PCA 液 3 ml (6% Perchloric acid + 0.5 × 10⁻³ モル EDTA) を加え、10,000 rpm で15分間遠沈し、その上清液を 69% K₂CO₃ にて pH 6.0 に調整し、さらに 10,000 rpm で5分間遠沈した。この上清液をサンプルとして、Lamprecht らの方法¹⁸⁾、adenosinetriphosphate (ATP) を、Jaworek らの方法¹⁴⁾で、adenosinediphosphate (ADP)、adenosinemonophosphate (AMP) を定量し、

$$\text{Energy Charge} = \frac{\text{ATP} + 1/2 \text{ADP}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}}$$

の式から Energy Charge³⁾ を算出した。

結 果

NADH 蛍光量による細胞内 redox state は、光の入射口を閉じた状態を 0% とし、非虚血時の生理的状态を 100% としてあらわすと、CBC 群では、第二報⁶⁾で示した様に、大動脈遮断、心停止液注入により、蛍光は 100% から 180% に増加しプラトーとなった。大動脈遮断 30 分後、60 分後の CBC 液の注入で、蛍光は瞬時に 100% まで減少した。その後、90 分、120 分後の CBC 液注入では、蛍光量は 100% まで減少するが約 1 分以上を要し、150 分、180 分後では、CBC 液注入時の蛍光量の減少量が少なくなるとともに、注入終了時の蛍光量増加が悪くなり、その後次第に減衰傾向を示した。

一方、GIK 群では、大動脈遮断、心停止液注入で、蛍光量が 100% から 180% に増加した後、30 分毎の GIK 注入時にも、全く蛍光量は変化しなかった。そして 150 分後、あるいは 180 分後の大動脈遮断解除による血流再開により、蛍光量ははじめて減少し、心筋は心室細動をはじめた。(図 1)

ポーログラフィによる心筋組織内酸素濃度は、大動脈遮断、心停止液注入により減少し、約 10 分で、最低値でプラトーとなった。

CBC 群では CBC 液注入により、第二報で示した

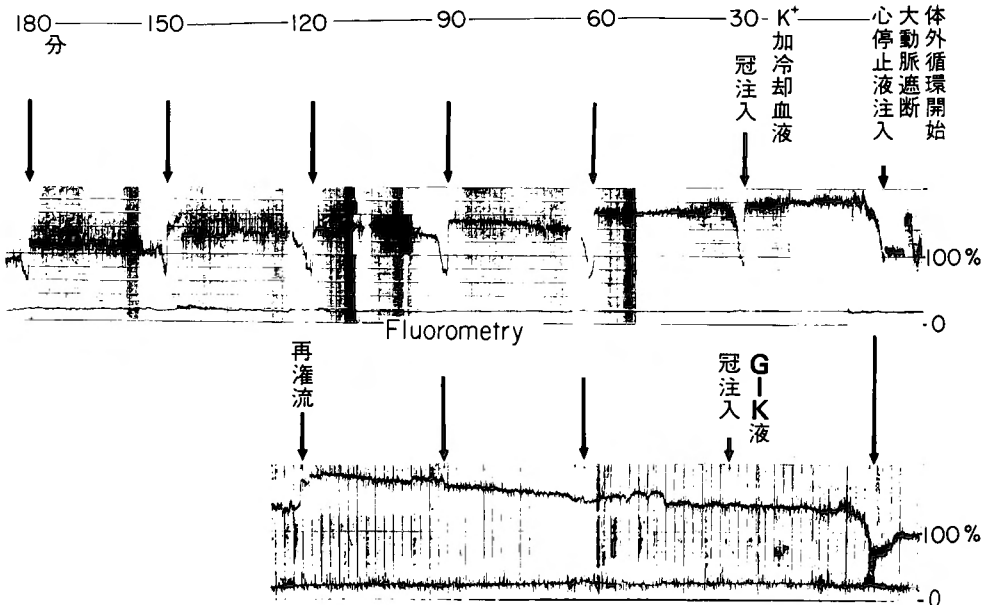


図 1

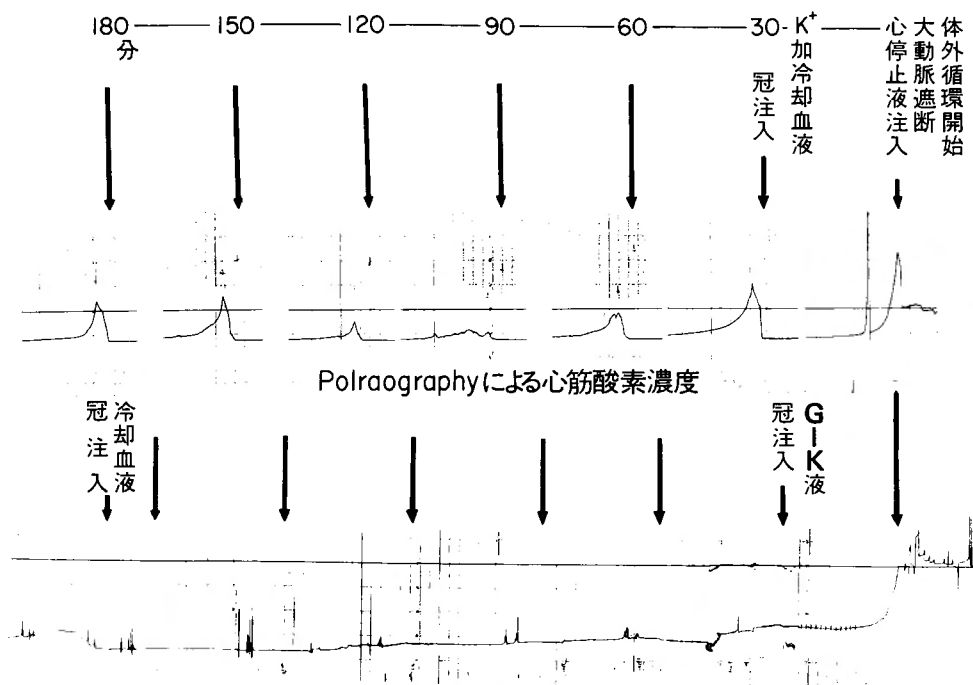


図 2

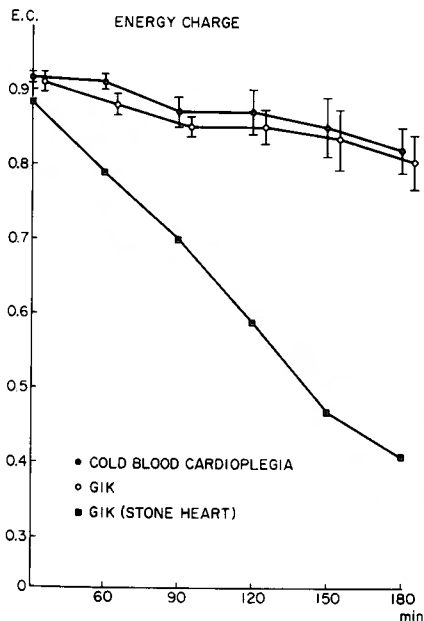


図 3

様に、心筋組織酸素濃度は上昇し、その上昇の程度は、遮断30分後から150分後までは、しだいに減少し、180分後より、再び増大した。

一方 GIK 群では、30分毎に GIK を注入しても心筋組織酸素濃度はほとんど増加しなかった。150分または180分の大動脈遮断解除後の血流再開により、はじめて上昇を示した。(図2)

Energy Charge は、CBC 群で、大動脈遮断前 0.94 ± 0.01 , 60分後 0.86 ± 0.02 , 90分後 0.86 ± 0.02 , 120分後 0.87 ± 0.04 , 150分後 0.85 ± 0.04 , 180分後 0.83 ± 0.04 であった。一方 GIK 群では、大動脈遮断前 0.91 , 60分後 0.86 ± 0.01 , 90分後 0.86 ± 0.01 , 120分後 0.85 ± 0.01 , 150分後 0.84 ± 0.01 , 180分後 0.82 ± 0.01 であり、両群間に有意差はなかったが、CBC 群が、平均値でやや高い傾向を示した。(図3)

考 察

心筋酸素消費量は、心停止により減少し、低温によりさらに減少する。

心筋 100 g あたりの酸素消費量は、beating heart で、8~10 ml/分が、non-working beating heart で 3.4 ml/分に、心停止により、2.0 ml/分に減少する^{12,20)}。Buckberg らによれば、22°C の低温で、心停止下、0.3 ml/分⁹⁾と報告している。

このように低温にしても酸素消費量は 0 にはならな

い。すなわち細胞を維持するための metabolic demand は存在する。この事実を考慮すると、心停止中でも、できるだけ好気性代謝を維持してやるのが、より望ましいと考えられ、それにより、わずかでも、高エネルギー磷酸化合物の産生を促がし、また乳酸の蓄積による acidosis を防ぐことになると考えられる。この目的のためには、できるだけ酸素加された cardioplegia 液を灌流すれば良い。crystalloid cardioplegia 液に、酸素を直接 bubbling すると、酸素分圧は 550~650 mmHg にまで上昇する。ところが、液体の溶解度の法則から 100 ml の液体が、37°C で 1 気圧の酸素にさらされた時、約 2.23 ml の酸素が溶解する。一方では、血液の場合、ヘモグロビンが存在するため、ヘモグロビン 1 g に 1.36 ml の酸素が結合する。希釈体外循環において、ヘモグロビンが 10 g/dl と仮定しても、13.6 ml の酸素が血液 100 ml に含まれることになる。Engelman⁹⁾ らによれば、crystalloid cardioplegia 液と、oxygenated crystalloid 液と、blood cardioplegia 液で、冠動脈、冠静脈酸素濃度較差から、心筋の酸素摂取量を比較したところ、crystalloid cardioplegia 液では、 0.5 ± 0.1 vol%，oxygenated crystalloid cardioplegia 液では、 3.0 ± 0.1 vol%，blood cardioplegia 液では 5.8 ± 0.1 vol% であったと報告している。著者の実験結果からも明らかなように、cold blood cardioplegia は、大動脈遮断による心停止中の間歇的冠灌流により、心筋に間歇的に酸素を供給し、しかもその酸素を利用して、ミトコンドリア内の電子伝達系が進み、NADH が NAD に酸化され、細胞内 redox state が酸化状態に変化することがわかる。しかし、GIK 群と CBC 群の間で、fluorometry による細胞内 redox state、心筋組織酸素濃度にはっきりした差があるのに比べ、Energy Charge には、ほとんど差が無い。考えられる理由として、まず fluorometry による蛍光量測定や、ポーラログラフィによる心筋組織酸素濃度の測定は、in vivo で、on-line で、しかも non-invasive であるのに対し、Energy Charge は、心筋を切除し、液体窒素で凍結し、酵素反応を行なって、UV 法で測定するため、on-line とは全くかけはなれ、しかも invasive である。次に、低温下で代謝が抑制されている状態、間歇的に酸素化され、ミトコンドリア内の電子伝達系で、NADH が NAD に酸化されても、ATP の合成が不十分である状態、すなわち、uncoupling に近い現象が起こっている結果、Energy Charge では、GIK 群、CBC 群で、ほとんど差がで

なかったのではないかと考えられる。しかし、GIK、CBC 液の冠注入前後の ATP の変化、あるいは、持続的 CBC の注入時の ATP の変化を検討していないので、後者については推測のみである。

ところで、著者の用いた実験モデルは、大動脈遮断中 non-coronary flow を完全に shut out しており、この点臨床における場合と多に異なっている。Brasier⁴⁾ によれば、拍動している心臓には心筋 100 g あたり毎分 100 ml の冠流量があり、non-coronary flow は、0.25 ml/100 g/min である。ところが、大動脈遮断による心停止においては冠血流はもちろん 0 となるが、non-coronary flow は、 3.3 ± 5.6 ml/100 g/min で増加し、特に左室肥大がある場合は、12~16 ml/100 g/min にまで増加する。以上は血圧が約 100 mmHg の場合で、血圧を 50 mmHg に下げると、non-coronary flow は 3.3 ± 5.6 ml から 0.07 ± 0.03 ml/100 g/min と非常に減少し、逆に、ヘマトクリットを 40% から、20% に下げると、 4.3 ± 3.5 ml/100 g/min と増加すると報告している。

体外循環中は、血圧は 50 mmHg 前後に下降しており、ヘマトクリットは希釈体外循環により、20~30% 位に下げていることを考慮すると、希釈体外循環中、大動脈遮断下心停止状態では、約 2.0~3.0 ml/100 g/min の non-coronary flow があるのではないと思われる。臨床においては、crystalloid cardioplegia を使用している施設が多く、かつ 120~150 分の心停止で、十分な心筋保護効果が得られているのが現状である。このことは、non-coronary flow による酸素供給によって、大動脈遮断下心停止といえども、わずかであるが好気性代謝が行なわれている事が関与していると考えられる。それでは、non-coronary flow があれば、さらに blood cardioplegia の冠灌流により酸素を供給する必要は無いのであろうか。また逆に、低温下で、心筋代謝が抑制され、酸素消費量が低下している状況下で、酸素を過剰に添加することで、逆効果が現れることは無いだろうか。以上の疑問を検討するため、GIK 群と、CBC 群において、ミトコンドリア内過酸化脂質（チオバルビツール酸反応物質、TBARS）と、ミトコンドリア内電子伝達系を構成する補酵素の 1 つである CoQ₁₀ を測定した。

Part II

雑種成犬 16 頭を使用し、同じ実験モデル、実験条件

下で、60分毎に左室心筋を切除し、Tylerの方法で、ミトコンドリアを分離し、このミトコンドリア浮遊液に含まれる、TBARSをPackerの方法²³⁾を用いて定量した。

またミトコンドリア浮遊液に含まれるCoQ₁₀は高速クロマトグラフィにより、定量した¹²⁾。ミトコンドリアの蛋白量は、Lowryの方法¹⁹⁾で行ない、ミトコンドリア蛋白1mgあたりのTBARS、CoQ₁₀に換算し、比較検討した。

結 果

TBARS

GIK群では、大動脈遮断前、 0.27 ± 0.03 n moles/mg・proteinであったのが、大動脈遮断後、増加する傾向を示し、遮断後180分後は、 0.67 ± 0.36 n moles/mg・proteinとなったが、統計的有意な変化は無かった。(表1)(図4)

CBC群では、大動脈遮断前、 0.27 ± 0.03 n moles/mg・proteinであったのが、大動脈遮断後、虚血時間の延長に伴い増加し、180分後は 0.65 ± 0.12 n moles/

mg・proteinとなり、 $p < 0.01$ の有意差で、増加した。(表1)(図5)

GIK群、CBC群で、統計的有意差は無かった。

CoQ₁₀

GIK群では、大動脈遮断前、 13.75 ± 0.15 μ g/mg・

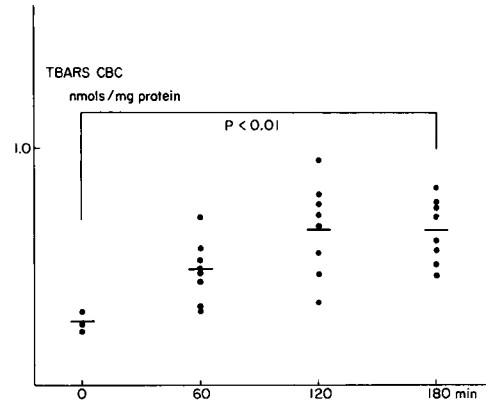


図 5

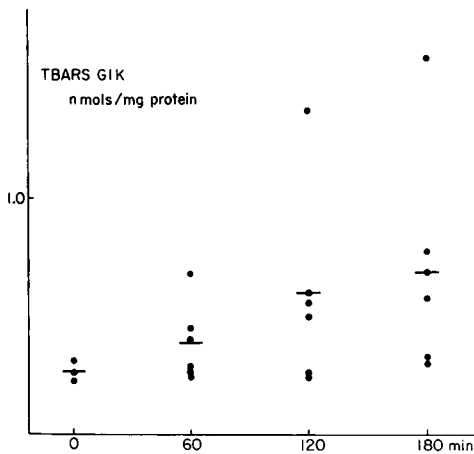


図 4

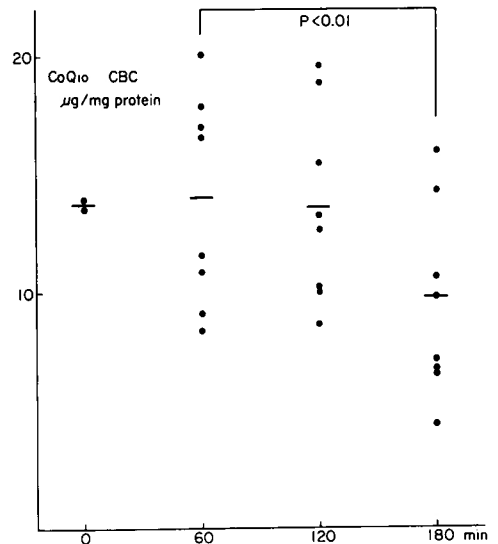


図 6

表 1

| | | 遮断前 | 60分 | 120分 | 180分 | 実験数 |
|--------------------------------------|-----|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----|
| TBARS n moles/mg prot | GIK | 0.27 ± 0.03 | 0.39 ± 0.15 | 0.63 ± 0.45 | 0.67 ± 0.36 | 6 |
| | CBC | 0.27 ± 0.03 | 0.49 ± 0.12 | 0.66 ± 0.18 | 0.65 ± 0.12 | 8 |
| CoQ ₁₀ μ g/mg prot | GIK | 13.75 ± 0.15 | 12.8 ± 2.3 | 11.9 ± 1.2 | 7.5 ± 1.2 | 5 |
| | CBC | 13.75 ± 0.15 | 14.0 ± 4.3 | 13.6 ± 3.8 | 9.5 ± 3.8 | 8 |

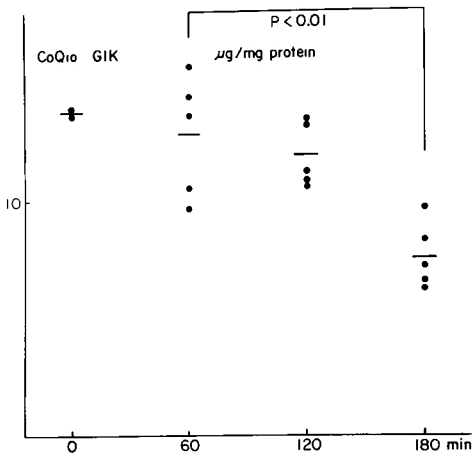


図 7

protein であったのか、大動脈遮断後、虚血時間の延長に伴い減少し、180分後 $7.5 \pm 1.2 \mu\text{g/mg} \cdot \text{protein}$ となり、 $p < 0.01$ で、有意に減少した。(表1)(図6)

CBC 群では、大動脈遮断前の $13.75 \pm 0.15 \mu\text{g/mg} \cdot \text{protein}$ が、大動脈遮断後減少し、180分後、 $9.5 \pm 3.8 \mu\text{g/mg} \cdot \text{protein}$ となり、 $p < 0.001$ の有意差で減少した。(表1)(図7)

GIK 群、CBC 群間に有意差は存在しなかった。

考 察

好氣的エネルギー代謝を持つ生物は、酸素なしには生存不可能であるが、この酸素はある状況下では有毒作用を有する場合がある。

酸素分子が還元される過程で生じた分子種、すなわち、酸素分子 (O_2) が一電子還元を受けると、スーパーオキシドラジカル (O_2^-) となり、順次、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシラジカル (OH^\bullet) となって、最後に水が生じる。この O_2^- 、 H_2O_2 、 OH^\bullet 及び、励起状態の酸素である一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) は、基底状態の酸素 (三重項酸素 $^3\text{O}_2$) に比べて反応性が高く活性酸素と呼ばれている。

不飽和脂肪酸の自動酸化の結果生じる脂質過酸化物も広義の活性酸素と考えられ、これらが、生体成分を破壊するために起こる酸素毒性は、臨床面で、老化現象とくに動脈硬化性病変の発生や進展、血栓症の発生の原因と考えられ、さらには、脳外科領域での脳出血や脳梗塞による脳細胞障害、循環器領域での心筋虚血による心筋細胞障害に関連が深く、近年徐々に解明されつつある。

活性酸素やフリーラジカルが、どのような機序で発生し、また細胞障害を起こすかは、いろいろ議論のあるところであるが、細胞膜をはじめとしてミトコンドリア膜、小胞体膜、ライソゾーム膜、核膜などの生体膜は不飽和脂肪酸に富むリン脂質二重層を構造の基本としていると考えられ²⁵⁾、また、生体膜は、物質輸送、エネルギー産生などの細胞機能を保つ重要な役割を持っている。この生体膜が虚血により障害されると脂質が酸素にふれて、フリーラジカルが蓄積される結果、種々の過酸化脂質が生成されて細胞組織の崩壊をまねくと考えられている。

脳外科領域で、この脂質代謝からの研究が進んでおり、Demopoulos^{7,8)} らは、遊離基による脂質の過酸化が虚血性脳障害の発生に関与するとの仮説を発表した。彼らの考え方は、まず脳虚血によりミトコンドリア呼吸鎖末端での最終的な電子受容体である酸素が欠乏し、このため電子伝達系に過剰の電子が停留し、 CoQ_{10} や FAD が制御を失った遊離基として活動し始める。この CoQ ラジカルによって、膜脂質の多価不飽和脂肪酸は水素原子を奪われ、膜内にアルキルラジカルが生成する。その結果、膜の構造と機能が障害を受ける。一方、小暮^{16,17)} や吉田²⁹⁾ らは、脂質過酸化は、一旦虚血ストレスをこえた組織に酸素が再供給される過程で起こると主張している。すなわち、脳虚血後に血行を再開すると、脳血流はしばしば正常以上に増加し、組織は急速に再酸化される。この時期にはミトコンドリアの redox state は過剰酸化に傾いており、電子の流れに不足を生じている。

つまり、血流再開後の急性期には利用されない酸素が不完全還元を受けて活性酸素群を生じ易い状況にある。この活性酸素により生体膜脂質の過酸化が引き起こされるとしている。

以上のような虚血による脳細胞障害の考え方が、心筋細胞の虚血による障害にもあてはまるであろう。cold blood cardioplegia 法による心筋保護法は、一旦虚血にした後、30分毎に血液を再灌流するわけであり、低温下で、酸素消費量、代謝の低下した細胞に過剰酸素を供給することになり、利用されない酸素 (第二報で示したように、虚血180分以後、CBC灌流時の心筋組織酸素濃度は上昇するようになる) が、不完全還元を受けて活性酸素を生じ、そのため過酸化脂質の生成を早める結果になるのではないかという不安がある。しかし著者の実験結果からは、酸素供給のできない GIK 群との間で、過酸化脂質 (TBARS) に統計的

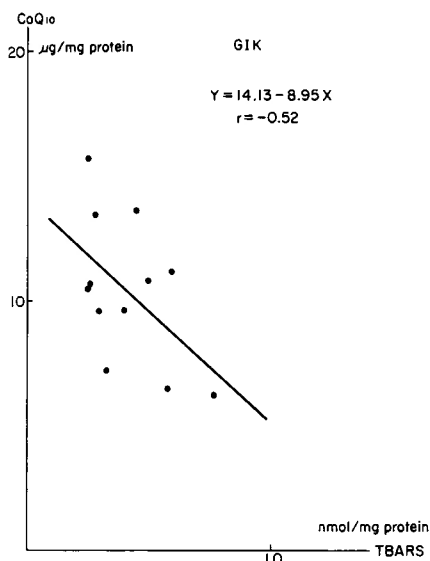


図 8

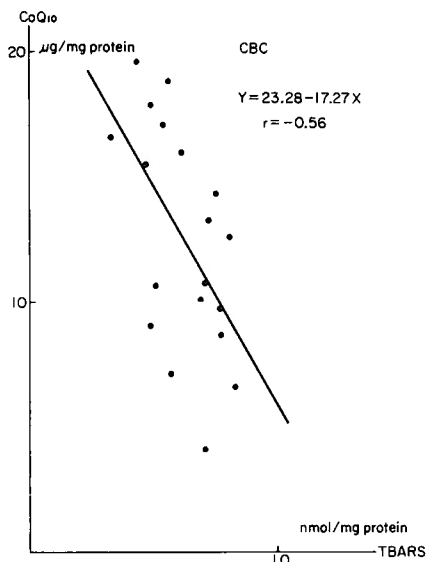


図 9

有意差は無かった。

このことから、180分迄の虚血では、cold blood cardioplegia 法で、過剰酸素を原因とする活性酸素形成、過酸化脂質生成の促進は無く、むしろ、虚血そのものにより、過酸化脂質が生成されるように思われる。ただし、過酸化脂質の測定法はいろいろあり、それぞれ測定対象としているものが異なっている。その理由は、過酸化脂質が、化学的手法の最も基本的な常法である生体材料よりの抽出分離、精製、構造決定という方法論を適用するには不安定であること、また過酸化脂質がどのようにして作られ、どのように分解し、どのように中間代謝を経てどのような終末産物になるか、化学的にはっきり同定されていないことがあげられる²⁰⁾。著者の用いた Packer の方法は、チオバルビツール酸反応物質を測定するものであり、チオバルビツール酸陽性物質と過酸化脂質の関連は明確でない部分も残されている。

最後に CoQ₁₀ は、ミトコンドリア内の電子伝達系を構成する補酵素である。心筋が虚血状態になると、障害部の CoQ₁₀ は欠乏し、CoQ₁₀ 投与により、ミトコンドリアの呼吸能や ATP 産生機能は改善されるといわれている。また檜林²²⁾によると CoQ₁₀ の還元型が脂質の過酸化に対して antioxidant 作用があり²¹⁾、マロンジアルデハイドで過酸化脂質を追いつ、CoQ₁₀ と脂質過酸化をみると、過酸化が進むにつれて CoQ₁₀ のミトコンドリア内含量は減少し、120分の脂質過酸化処

理で、約20%に減少すると報告している。

著者の実験結果からミトコンドリア内 CoQ₁₀ 含量と、過酸化脂質 (TBARS) を比較すると、GIK 群で、 $y = 14.13 - 8.95x$ (相関係数 -0.52) (図 8) CBC 群では、 $y = 23.28 - 17.27x$ (相関係数 -0.56) (図 9) と、負の相関があり、CoQ₁₀ が減少すると、脂質の過酸化が進むことを示した。

さらにミトコンドリア内 CoQ₁₀ 含量は、虚血時間延長に伴ない、それに逆比例して減少し、虚血180分では有意に減少している。このことは、第二報で報告したように、microfluorometry による蛍光量の変化が、180分以後減少し、ミトコンドリア内電子伝達系の障害を示唆する所見、および、ポーラログラフィによる心筋組織内酸素濃度が180分以後増加し、ミトコンドリアで十分に酸素が利用されないことを示唆する所見を考え合わせると、虚血による細胞、ミトコンドリアの破壊に電子伝達系の構成補酵素である CoQ₁₀ の減少が深く関与しているのではないかと考えられる。

結 論

cold blood cardioplegia 法は、心筋への酸素を供給するという点で、crystalloid cardioplegia 法よりすぐれている。

cold blood cardioplegia 液の冠動脈注入により、ミトコンドリア内電子伝達系は、その酸素を利用し、NADH は NAD に酸化される。

近年問題となっている酸素毒性、いわゆる活性酸素、フリーラジカルについて検討した結果、低温心停止下で、cold blood cardioplegia 法が、GIK 法と比較して、過酸化脂質 (TBARS) の生成を促進することはなかった。

ミトコンドリア内の CoQ₁₀ は虚血時間の延長に伴ない有意に減少し、過酸化脂質は増加した。これらは、虚血による細胞破壊の一因子と考えられる。

本論文の要旨は、第82回日本外科学会総会 (千葉、1982) において発表した。

稿を終るにあたり、終始御指導頂き、且つ御校閲を賜りました恩師、日笠頼則教授、並びに、御指導御教示頂きました竜田憲和講師に深く感謝の念を表します。また、研究を手伝って頂きました白石義定先生、エーザイ薬理研究所の皆様にも厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Abe K, Ishibashi K, et al: Determination of ubiquinone in serum and liver by high-speed liquid chromatography. *J Nutr Sci Vitam* **24**: 555-567, 1978.
- 2) 阿部皓一, 石橋恭子, 他: 蛍光検出器付き高速クロマトグラフィによる血清中のユビキノンの定量。ビタミン **51**: 119-125, 1977.
- 3) Atkinson DE: The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter interaction with feedback modifiers. *Biochem* **7**: 4030-4034, 1968.
- 4) Brasier J, Hottenrott C, et al: Noncoronary collateral myocardial blood flow. *Ann Thorac surg* **19**: 426-431, 1975.
- 5) Buckberg GD, Brazier JR, et al: Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **73**: 87-94, 1977.
- 6) 千葉幸夫: 心臓外科領域における microfluorometry の応用 2. 心筋エネルギー代謝からみた、虚血によるミトコンドリアの障害と Cold Blood Cardioplegia 法の安全限界について。日本外科宝函 **52**: 439-449, 1982.
- 7) Demopoulos HB: The basis of free radical pathology. *Fed Proc* **32**: 1859-1896, 1973.
- 8) Demopoulos HB, Flamm ES, et al: Molecular pathology of lipids in CNS membrane. In *Oxygen and Physiological Function* edited by Jöbsis ef, Dallas, Professional Information Library 1977, p 491-508.
- 9) Engelman RM, Rousson JH, et al: The superiority of blood cardioplegia in myocardial preservation. *Circulation* **62** (Suppl 1): I-62-66, 1979.
- 10) Follette DM, Mulder DG, et al: Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia. experimental and clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg* **76**: 604-619, 1978.
- 11) Follette DM, Steed DL, et al: Advantages of intermittent blood cardioplegia over intermittent ischemia during prolonged hypothermic aortic clamping. *Circulation* **58** (Suppl 1): I-200-209, 1978.
- 12) Fuhrman GJ, Fuhrman FA, et al: Metabolism of rat heart slices, with special reference to effects of temperature and anoxia. *J Biol Chem* **163**: 642-647, 1950.
- 13) 早石修: 活性酸素について、虚血と細胞障害——活性酸素、フリーラジカル——, 東京。医療薬出版株式会社 1980, p 3-24.
- 14) Jaworek D, Gruber W, et al: Adenosine-5'-diphosphate and Adenosine-5'-monophosphate. In *Methods in Enzymology*, New York, Academic Press 1957 p 2127-2131.
- 15) 北村信夫: 各種心筋保護法の実験的検討と GIK 液による冠灌流冷却法の臨床応用。胸部外科 **31**: 507-512, 1978.
- 16) Kogure K, Morooka H, et al: Involvement of lipid peroxidation in postischemic brain damage. *Neurology (Minneapolis)* **29**: 546-554, 1979.
- 17) 小暮久也: 虚血と脳代謝——フリーラジカル反応にふれて——。虚血と細胞障害——活性酸素、フリーラジカル——, 東京。医療薬出版株式会社 1980, p 51-70.
- 18) Lamprecht W, Transchold I: Adenosine-5'-triphosphate. determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In *Methods in Enzymology*, New York, Academic Press 1957, p 2097-2110.
- 19) Lowry OH, Rosbrough NJ, et al: Protein measurement with the folic phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265-275, 1951.
- 20) Mckeener WP, Gregg DE, et al: Oxygen uptake of the nonworking left ventricle. *Circ Res* **6**: 612-623, 1958.
- 21) Mellors A, Tappel AL: The inhibition of mitochondrial peroxidation by ubiquinone and ubiquinol. *J. Biol Chem* **241**: 4253-4356, 1966.
- 22) 檜林英樹, 竹重公一朗, 他: コエンザイム Q₁₀ に及ぼす脂質過酸化反応の影響。コエンザイム Q₁₀ 研究会報告集, 東京。エーザイ株式会社 1981, p 25-29.
- 23) Packer L: *Experiments in Cell Physiology*, edited by Packer L, New York, Academic Press 1967, p 202.
- 24) Placer ZA, Cushman LL, et al: Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* **16**: 359-364 1966.

- 25) Singer SJ, Nicolson GL: The mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* **175**: 720-731, 1972.
- 26) Tappel AL: Lipid peroxydation damage to cell components. *Fed Proc* **32**: 1870-1874, 1973.
- 27) Tyler DD, Gonze J: The preparation of heart mitochondria from laboratory animals. In *Methods in Enzymology*, New York, Academic Press 1957, p 75-77.
- 28) 植田伸夫: 測定法からみた過酸化脂質の問題点, 脳虚血と細胞障害——活性酸素とフリーラジカルの関与——, 東京. にゅーろん社, 1981, p 9-12.
- 29) 吉田伸一, 伊能 睿, 他: 実験的脳虚血における膜脂質の崩壊—血流再開始とフリーラジカルの関与, 東京. にゅーろん社 1981, p 39-50.